

University of Groningen

The rat brain as target for stress and corticosterone

Krugers, Harmen Johannes

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1996

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Krugers, H. J. (1996). *The rat brain as target for stress and corticosterone: Morphological, immunocytochemical and behavioral studies on the rat hippocampus*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

7. Samenvatting

Als gevolg van fysieke en psychologische of emotionele veranderingen in onze omgeving worden processen in onze hersenen en periferie geactiveerd of juist afgeremd zodat we met deze veranderende omstandigheden om kunnen gaan. Stress is een voorbeeld van een proces of gebeurtenis die zulke fysiologische reacties oproept. Hoewel de term stress een negatieve klank heeft is de stress-respons een adaptief proces. De manier waarop individuen reageren op stress is zeer variabel en hangt af van genetische factoren, ervaringen in het verleden en de duur, frequentie, voorspelbaarheid en controlebaarheid van de stress.

Corticosteron is een hormoon dat door de bijnier wordt aangemaakt en gedurende het circadiane ritme en tijdens en na stress aan het bloed wordt afgegeven. Corticosteron beïnvloedt allerlei processen in de periferie maar bindt ook aan receptoren in de hersenen van de rat en moduleert processen in het brein. Tot dusver zijn twee intracellulaire receptoren voor corticosteron gekarakteriseerd die verschillen in structuur, localisatie, affiniteit voor corticosteron en functie. De hippocampus van de rat is een hersengebied dat beide receptoren voor corticosteron bevat. Daarom is het aannemelijk dat corticosteron en stress (via corticosteron) processen in de hippocampus beïnvloeden.

In deze dissertatie is onderzoek beschreven naar de effecten van corticosteron en stress in de hippocampus van de rat. Onder andere zijn morfologische en neurochemische consequenties van lage en hoge spiegels van corticosteron en stress in de hippocampus onderzocht. In dit onderzoek werden anatomische en immunocytochemische technieken gebruikt om veranderingen in de hersenen zichtbaar te maken. Daarnaast werden consequenties van stress en corticosteron bestudeerd op gedrag waarvan aangenomen wordt dat de hippocampus er een belangrijke rol in speelt: ruimtelijke oriëntatie. In dit onderzoek werden gedragsstudies en anatomische- en immunocytochemische-technieken gecombineerd.

Allereerst werd onderzocht wat de consequenties zijn van afwezigheid van corticosteron voor de hippocampus van de rat. In hoofdstuk 2 wordt beschreven dat het verwijderen van de bijnieren (adrenalectomy, ADX) gepaard gaat met degeneratie van granule cellen in de hippocampus van de rat. Deze degeneratie is al drie dagen na het verwijderen van de bijnier zichtbaar, is specifiek voor granule cellen in de dentate gyrus en neemt toe in de tijd. De hoeveelheid degenererende cellen is variabel, maar in dieren waar degenererende granule cellen aangetroffen worden is het patroon waarin deze degeneratie plaatsvindt vergelijkbaar. Het is zeer aannemelijk dat de degeneratieve veranderingen ook een verlies van cellen betekent omdat de veranderingen zowel in tijd als in plaats gepaard gaan met verlies van Calbindin-D28k immunoreactieve cellen en een toename van immunoreactiviteit van een belangrijk filament van astrocyten (Glial Fibrillary Acidic Protein, GFAP) wat duidt op gliose. Deze veranderingen konden worden voorkomen door zeer lage doseringen corticosteron in het drinkwater toe te dienen wat aantoonde dat corticosteron nodig is voor het overleven van granule cellen in de hippocampus van de rat.

Omdat gerapporteerd is dat dendriten van pyramide cellen in het CA3 gebied van de hippocampus van vorm veranderen na langdurig toedienen van hoge doseringen corticosteron werd onderzocht of deze morfologische veranderingen degeneratieve veranderingen waren. Met behulp van de "silver-impregnation" methode werden geen degeneratieve veranderingen aangetroffen. Wel werd waargenomen dat na langdurig toedienen van hoge doseringen corticosteron de immunoreactiviteit van het calcium-bindende eiwit Calbindin-D28k in het CA1 gebied van de hippocampus toeneemt terwijl de hoeveelheid Calbindin-D28k sterk afneemt in bijnierloze dieren. Dit suggereert een rol voor corticosteron in de regulatie van dit eiwit dat een rol speelt in de calcium homeostase van neuronen.

In hoofdstuk 3 worden experimenten beschreven waarin bestudeerd is of

corticosteron de kwetsbaarheid van neuronen beïnvloedt. Dit werd onderzocht door de hoeveelheid schade in de hersenen te bekijken na een korte periode van verminderde bloedtoevoer naar de hersenen (hypoxie/ischemie) en te bestuderen of veranderingen in plasma corticosteron spiegels voor en tijdens hypoxie/ischemie de hoeveelheid schade beïnvloedt. De steroid synthese remmer metyrapone reduceerde de stijging van plasma corticosteron die optreedt gedurende hypoxie/ischemie. In deze met metyrapone behandelde dieren werd minder schade in de hersenen gevonden dan in controle dieren die extreem hoge plasma corticosteron spiegels gedurende hypoxie/ischemie vertoonden. Ook in een tweede experiment werd gevonden dat hoge plasma corticosteron spiegels tijdens hypoxie/ischemie gerelateerd lijken te zijn met de hoeveelheid schade na hypoxie/ischemie. In ratten die acht dagen lang met een hoge dosering corticosteron werden behandeld tot 1 dag voor hypoxie/ischemie was de stijging van plasma corticosteron spiegels tijdens hypoxie/ischemie gereduceerd (waarschijnlijk door down-regulatie van de hypothalamus-hypofyse-bijnier-as) en werd significant minder schade in de hersenen gevonden. Deze effecten werden door de hele hersenen gevonden en waren niet specifiek voor de hippocampus. Ook werd waargenomen dat de dieren met de grootste stijging van plasma corticosteron spiegels (die ook de meeste schade hadden) de meeste (zichtbare) seizures vertoonden. Deze resultaten suggereren dat plasma corticosteron spiegels gedurende een periode van hypoxie/ischemie gerelateerd zijn met de hoeveelheid schade die ontstaat als gevolg van hypoxie/ischemie. Er kunnen echter meer verklaringen zijn waarom metyrapone en down-regulatie van de HPA-as de hoeveelheid schade na hypoxie/ischemie reduceren.

Omdat langdurige stress een situatie is waarin plasma corticosteron spiegels verhoogd zijn werden degeneratieve en neurochemische veranderingen in de hippocampus bestudeerd na acht dagen sociale stress (**hoofdstuk 4**). Deze vorm van stress werd uitgevoerd door experimentele ratten te confronteren met een

dominante mannelijke rat. Als gevolg van deze interactie vond er een gevecht plaats dat per definitie verloren werd door het experimentele dier. Vervolgens verbleef dit experimentele dier acht dagen lang in het territorium van de dominante rat wat gepaard ging met veranderingen van parameters die traditioneel gezien worden als indicatie van langdurige stress; reductie van lichaamsgewicht en gewicht van de thymus, toename van het gewicht van de bijnier (gecorrigeerd voor het lichaamsgewicht) en een tijdelijke verhoging van plasma corticosteron spiegels (**hoofdstuk 5**). Er werden geen degeneratieve veranderingen in de hippocampus van jonge ratten waargenomen na stress. Wel was de immunoreactiviteit van Calbindin-D28k in de CA1 pyramidale cellaag verhoogd na de stress. Literatuur suggereert dat bepaalde aspecten van de stress-respons anders zijn in jonge dan in oude ratten en dat oude dieren meer "kwetsbaar" zijn voor stress en corticosteron. Beschreven is dat stress voor een versneld verlies van neuronen zorgt in oude dieren. In **hoofdstuk 4** werden neurochemische en morfologische veranderingen in de hippocampus van oude ratten (24-26 maanden oud) bestudeerd en de effecten van de acht dagen durende sociale stress (op de manier zoals hierboven beschreven) onderzocht. De immunoreactiviteit van het calcium bindende eiwit Calbindin-D28k bleek gereduceerd in de mossy fiber laag en granule cellen van de dentate gyrus van oude dieren. Confrontatie van oude dieren met een dominante mannelijke rat reduceerde lichaamsgewicht en ging gepaard met een toename van het gewicht van de bijnieren. Acht dagen na de stress werden geen degeneratieve veranderingen of veranderingen in de immunoreactiviteit van Calbindin-D28k waargenomen.

In **hoofdstuk 5** is onderzoek beschreven naar de effecten van acht dagen sociale stress en verhoogde plasma corticosteron spiegels op gedrag waarvan wordt gedacht dat de hippocampus er een belangrijke rol in speelt: ruimtelijke oriëntatie. Om dit te onderzoeken werden ratten gedurende 10 dagen getraind om een ruimtelijke oriëntatie taak uit te voeren.

Deze taak bestond uit het vinden van voedsel dat zich in een vast patroon in 4 van de 16 holletjes in de zogenaamde "hole board" bevond. Zowel controle dieren als dieren die voorafgaande aan de training in de hole board acht dagen aan stress hadden blootgestaan leerden in de loop van de tijd welke holletjes gevuld waren. De dieren die stress hadden gehad (de stress zoals bestudeerd in **hoofdstuk 4**) maakten echter meer fouten bij het vinden van de juiste holletjes wat ook tot uitdrukking kwam in een deficiëntie in werk- en referentie geheugen.

Tevens werd onderzocht of deze gedragsverschillen op cellulair niveau in de hippocampus konden worden waargenomen. In de controle groep was het aanleren van de ruimtelijke leertaak gerelateerd met een toename van de immunoreactiviteit van de γ -isoform van PKC in het CA1 gebied van de caudale hippocampus. De dieren die acht dagen aan stress hadden blootgestaan en slechter leerden lieten echter dezelfde toename van PKC γ -immunoreactiviteit zien in het CA1 gebied van de hippocampus als controle dieren.

In een tweede experiment werd onderzocht of de stijging van plasma corticosteron waarden zoals die waargenomen werd gedurende acht dagen stress effect heeft op het uitvoeren van de ruimtelijke oriëntatie taak. Daarom werden pellets met corticosteron bij ratten geïmplanteerd. Dit bleek echter geen effect te hebben op het referentie geheugen, werkgeheugen of het aantal holletjes dat bezocht werd om de 4 met voedsel gevulde holletjes te vinden.

Concluderend kan worden gezegd dat het onderzoek zoals hierboven beschreven is suggereert dat:

- a) corticosteron de ADX-geïnduceerde celdood kan voorkomen.
- b) het toedienen van hoge doseringen corticosteron gedurende drie weken geen degeneratieve veranderingen in de hippocampus veroorzaakt. Hoge plasma spiegels corticosteron tijdens hypoxie/ischemie **lijken** gerelateerd te zijn met meer schade na hypoxie/ischemie,
- c) corticosteron de immunoreactiviteit van Calbindin-D28k in het CA1 gebied van de hippocampus reguleert,
- d) de immunoreactiviteit van Calbindin-D28k gereduceerd is in de hippocampus van oude dieren. Na acht dagen stress is de immunoreactiviteit van Calbindin-D28k in de hippocampus van jonge maar niet van oude dieren toegenomen,
- e) het referentie- en werkgeheugen van ratten die acht dagen aan sociale stress hebben blootgestaan achterblijft. Dit wordt (24 uur na de laatste trainingssessie) op cellulair niveau niet gereflecteerd door een andere immunoreactiviteit van PKC γ in de hippocampus na het uitvoeren van die ruimtelijke oriëntatie taak,
- f) corticosteron zelf geen effect heeft op referentie en werkgeheugen.